PROTEUS Protein G Midi Kit 簡易取扱説明書

サンプルキット内容(PC-GK04)

・プレパックレジンプラグ(プロテイン G 結合アガロースビーズカラム)　4 個
・プレパックレジン用バレル(アングルローター使用で容量 0.65mL)　4
・50mL 遠心チューブ　8 個
・1x Binding Buffer(Buffer G)　250mL×1 本
・1x Elution Buffer(Buffer B2)　125mL×1 本
・Neutralization Buffer(Buffer C)　30mL×1 本
・10kDa MWCO 限外濾過カラム　4 個
・プラグ挿入用器具　1 本
・取り扱い説明ハンドブック

保存

プレパックレジンプラグは、2～8℃で保存して下さい。他は室温保存で問題ありません。(バッファー各種は、0.1%アジ化ナトリウムを含んでおります。)
プレパックレジンプラグを凍結させたり、室温保存しないようにご注意下さい。

他の使用器具

・フィルターユニット:0.2μ m と 1.2μ m のシリンジフィルター(サンプルの前処理に使用します。)
例) Millipore 社 0.2μ m Steriflip GP unit(カタログ番号 SCGP 005 25)

使用方法

1.レジンプラグの挿入
プレパックレジンプラグを、挿入用器具でバレルに押し込みます。英文の簡易取扱説明書に記載されている図をご参照下さい。

2.スピンカラムの平衡化(合計遠心時間=3 分間)
10mL の Binding Buffer G を、1 の操作で組み立てたスピンカラムに入れ、500×g で 3 分間遠心します。

3.サンプルの前処理
12-15mL のサンプルを、0.2μ m シリンジフィルターに通し、細胞の残渣などを除去します。

株式会社エムエステクノシステムズ
東日本 TEL 03-3235-0673 西日本 TEL 06-6396-6616
e-mail : technosales@technosaurus.co.jp

＊腹水、血清、細胞培養上清では、保存や凍結・融解の繰り返しによるタンパク質の沈殿が起こります。あらゆるクロマトグラフィーにおいて、サンプルをカラムにローディングする直前に 0.2μ m シリンジフィルターに通す操作が重要です。

4.サンプルローディング(合計遠心時間=30 分間)

サンプルを Binding Buffer G で 1:1 の割合で希釈します。(v/v; 例として、10mL のフィルター処理済みサンプルと 10mL の Binding Buffer G を混合する)

チューブの蓋を閉めて 3～4 回転倒混和します。希釈したサンプルを 20mL 取り、スピンカラムにローディングします。スピンカラムを 150×g で 30 分間遠心します。

＊スピンカラム内にサンプルが残っている場合は、遠心時間または遠心力を増やして下さい。

5.カラムの洗浄(合計遠心時間=6 分間)

スピンカラムに 10mL の Binding Buffer G を入れ、500×g で 3 分間遠心し、プラグに結合しなかった不要物を洗い流して除去します。この操作をもう一回行います。

6.新しい遠心チューブに 1.3mL の Neutralization Buffer C を入れておき、そこにスピンカラムを重ねます。スピンカラムに 10mL の Elution Buffer B2 を入れ、500×g で 3 分間遠心して IgG を溶出します。チューブを回して溶出液と Neutralization Buffer C を完全に混合します。この操作をもう一回行います。

＊精製抗体を濃縮して回収したい場合、2 つの溶出画分を別々にプールしないで下さい。

7.精製抗体の脱塩と濃縮

必要に応じて、10kDa MWCO 限外濾過カラムで抗体の脱塩と濃縮を行います。抗体を 2～8℃で保存する場合は、0.05～0.2%(w/v)のアジ化ナトリウムを加えて下さい。長期保存には、10～50%のグリセロールを加え、少量ずつに分注して－20℃で凍結保存することをお薦めします。

限外濾過カラムの使用方法は別紙をご覧下さい。

8.プロテイン G ミディプラグの再生

スピンカラムに 10mL の Elution Buffer B2 を加え、500×g で 3 分間遠心してミニプラグを洗浄します。続いて、スピンカラムに 10mL の Binding Buffer G を加え、同様の遠心操作を行います。

すぐに次の精製を行う場合は、再び手順 1 から操作を進めて下さい。

また、再生したプラグは保存することもできます。エンドキャップを外したままで、Binding Buffer G か、0.1%アジ化ナトリウム溶液(超純水で調製)に浸し、次の使用まで 2～8℃で保存して下さい。

株式会社エムエステクノシステムズ
東日本 TEL 03-3235-0673 西日本 TEL 06-6396-6616
e-mail : technosales@technosaurus.co.jp